

## НАРУШЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИММУННОЙ И НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМ ПРИ СТРЕССЕ, СИНДРОМЕ ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

РЫБАКИНА Е. Г., ШАНИН С. Н., ФОМИЧЕВА Е. Е., КОЗИНЕЦ И. А.,  
ФИЛАТЕНКОВА Т. А., ДМИТРИЕНКО Е. В.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,  
Санкт-Петербург

**Рыбакина Е. Г., Шанин С. Н., Фомичева Е. Е., Козинец И. А., Филатенкова Т. А., Дмитриенко Е. В.** Нарушения взаимодействия иммунной и нейроэндокринной систем при стрессе, синдроме хронической усталости и способы их коррекции // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 4. С. 161–174. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Проанализированы данные литературы и результаты собственных исследований в области изучения клеточно-молекулярных (в том числе сигнальных) механизмов развития стрессорной реакции и хронической усталости в эксперименте, а также возможности их коррекции короткими синтетическими пептидами и препаратом нативной ДНК. Экспериментально обосновано представление о том, что механизмы нарушений взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем при стрессе и синдроме хронической усталости не идентичны и являются результатом изменения уровня активности функций нейроэндокринной системы, активности иммунокомпетентных клеток и интенсивности трансдукции сигнала цитокинов по сфингомиелиновому пути в нервных клетках. Проведен анализ корригирующих эффектов действия пептидов вилон, эпیتالона, кортагена и препарата Деринат на нарушенные функции нейроэндокринной и иммунной систем, обусловленных действием стрессирующих факторов и агентов, вызывающих развитие синдрома хронической усталости.

**Ключевые слова:** иммунная, нейроэндокринная системы, стресс, хроническая усталость, трансдукция сигнала, пептиды, Деринат.

**Rybakina E. G., Shanin S. N., Fomicheva E. E., Kozinets I. A., Filatenkova T. A., Dmitrienko E. V.** Disturbances in interaction between the immune and neuroendocrine system under stress, chronic fatigue syndrome and the means for their correction // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 4. P. 161–174. Institute Experimental Medicine NWD RAMS. St. Petersburg, Russia, 197376.

The authors are analyzing literature data and the results of their own investigations in the area of studying cellular-molecular (including signaling) mechanisms of the development of experimental stress reaction and chronic fatigue syndrome, as well as the possibility for their correction by means of short synthetic peptides and preparation of native DNA. The conception suggesting that mechanisms of disturbances in interaction between the immune and neuroendocrine systems during stress and chronic fatigue syndrome are not identical and result from changes in the level of functional activity of the neuroendocrine system, the activity of immune-competent cells and the intensity of cytokine signal transduction via the sphingomyelin pathway has been experimentally substantiated. The analysis of correcting effects of peptides vilon, epitalon, cortagen and preparation Derinat on disturbed functions of the neuroendocrine and immune systems caused by the action of stressing factors and agents inducing chronic fatigue development has been performed.

**Key words:** immune, neuroendocrine systems, stress, chronic fatigue syndrome, signal transduction, peptides, Derinat.

Для корреспонденции: Рыбакина Е. Г., e-mail: iem@iem.spb.ru

Одним из важнейших направлений развития современной иммунофизиологии (нейроиммуномодуляции, психонейроиммунологии), предметом исследования которых является изучение взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем организма в норме и патологии, является анализ влияния различных дестабилизирующих воздействий на защитные функции на различных уровнях организации взаимодействия этих систем. На протяжении многих лет одна из основных задач этой научной дисциплины заключалась в получении строгих экспериментальных фактов, доказывающих возможность координирующего влияния нервной системы на функции

иммунной. Стремительное развитие иммунофизиологии на современном ее этапе с применением новых высокоточных методов исследования сделало возможным углубленное изучение все более тонких молекулярных, лиганд-рецепторных и генетических механизмов реализации взаимодействия иммунной, нервной и эндокринной систем организма и их нарушений при различных формах патологии.

Нарушения нейроиммунных взаимодействий являются одним из основных механизмов развития дисфункций иммунной системы при тяжелом стрессе (дистрессе) и синдроме хронической усталости [5, 7, 8, 10, 16, 23, 33]. В последнее десятилетие экспе-

риментальное изучение клеточно-молекулярных, в том числе сигнальных, механизмов взаимодействий нейроэндокринной и иммунной систем при стрессе и синдроме хронической усталости, а также возможность коррекции их нарушений, обусловленных действием стрессирующих факторов или агентов, вызывающих развитие хронической усталости, с помощью коротких пептидов и препаратов нативной ДНК стало одной из основных линий исследований Лаборатории нейроиммуномодуляции Отдела общей патологии и патофизиологии НИИЭМ СЗО РАМН.

Проблема «стресс и иммунная система» в настоящее время широко изучается в мире, и интерес к ней, помимо увеличения стрессорных нагрузок на организм человека в современном мире, в большой мере связан с появлением данных, подтверждающих возможность как позитивного, так и негативного эффектов стресса на защитные функции организма [7, 8, 12, 14, 44, 50, 58]. Фундаментальное изучение этой проблемы актуально еще и потому, что стрессорная реакция является составляющей любого патологического процесса, поэтому использование экспериментального стресса позволяет в определенной степени воспроизвести универсальную модель любой формы патологии.

Механизмы обеспечения устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям, включающие реакции врожденного и адаптивного иммунитета и их регуляцию, вовлекаются в ответ организма на дестабилизирующее воздействие уже на самых ранних этапах развития стрессорной реакции. В их реализации важнейшую роль играют эндогенные биорегуляторы: глюкокортикоидные гормоны, катехоламины и цитокины, прежде всего интерлейкин 1 (ИЛ-1) – один из ключевых регуляторов защитных функций, медиатор взаимодействия нервной и иммунной систем организма, активирующий глюкокортикоидную функцию гипоталамо-гипофизарно-адреноренальной системы (ГТАКС) и играющий важную физиологическую роль в развитии стрессорной реакции [20, 26, 27, 41, 54].

Постулирование двусторонних отношений между глюкокортикоидными гормонами и ИЛ-1 [6, 21] определило одно из приоритетных направлений исследования роли иммуномодулирующих цитокинов при стрессе. Тем не менее, в качестве основного критерия участия цитокинов в развитии стрессорной реакции рассматривается, главным образом, их продукция и уровень в крови. На современном этапе исследования физиологической роли ИЛ-1 и других цитокинов в центральных и иммунологических механизмах развития стрессорной реакции представляется целесообразным комплексный анализ изменений экспрессии, продукции цитокинов и его лиганд-рецепторных взаимодействий с иммунокомпетентными

и нервными клетками-мишенями. Важнейшее функциональное звено этого взаимодействия – трансдукция сигнала цитокина в клетку.

Информативным показателем активности защитных функций при стрессе является изменение функциональной активности различных популяций клеток иммунной системы, в том числе моноцитов, лимфоцитов, естественных киллерных (ЕК) клеток, и их способности отвечать на модулирующее действие регуляторных сигналов, прежде всего, цитокинов. Исследование эффектов действия стрессирующих факторов различной природы на функциональную активность иммунокомпетентных клеток позволяет оценить степень их участия в патогенезе стресс-обусловленных изменений функций иммунной системы и является основой для поиска способов коррекции этих изменений.

По современным представлениям, нарушение нейроиммунных взаимодействий является также одним из основных механизмов развития синдрома хронической усталости – многофакторного заболевания, новой нозологической единицы, этиология и патогенез которого, несмотря на проводимые в последние годы интенсивные исследования, не полностью раскрыты [1, 10, 45]. Лидирующее положение сохраняет вирусная гипотеза происхождения этого заболевания [25, 31, 43]. Именно часто наблюдаемое развитие синдрома хронической усталости на фоне вирусных инфекций стало основанием для его определения как постинфекционного хронического заболевания.

По принятым в настоящее время диагностическим критериям, синдром хронической усталости – это полиэтиологичное заболевание, основным проявлением которого является немотивированная, выраженная общая слабость, возникающая после незначительных умственных или физических нагрузок, длящаяся не менее 6 мес, не проходящая после сна и отдыха, сопровождаемая болезненными соматическими проявлениями, дисфункциями нервной, эндокринной и иммунной систем [1, 29, 60]. Исследование этиологии и механизмов развития синдрома хронической усталости с каждым годом становится все более актуальным не только с позиций медицинской науки, но и как социальная проблема, связанная с долговременной потерей работоспособности, прежде всего, молодых людей.

Изучение механизмов развития этого заболевания, распространенность которого в мире стремительно нарастает, проводится преимущественно при клинических наблюдениях [1, 10, 30, 48]. Экспериментальные исследования клеточных и молекулярных механизмов развития синдрома хронической усталости единичны [34, 36, 37], хотя именно такой подход позволяет моделировать развитие этого забо-

ления у животных и проводить его анализ с позиций нарушения взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем.

Результаты клинических наблюдений дают основание для предположения о важной роли нарушения взаимодействия ГГКС и иммунной системы в механизмах формирования этого синдрома [10, 24, 51]. Тем не менее этот аспект изучения механизмов развития синдрома хронической усталости остается одним из наименее исследованных, а имеющиеся данные литературы, нуждаются в обобщении и критическом анализе.

Расширение и углубление сведений об изменении показателей активности функций иммунной и нейроэндокринной систем при стрессе и различных формах патологии создают основу для разработки новых эффективных методов их коррекции. Перспективным подходом к коррекции нарушенных защитных функций организма представляется поиск возможности адресной, направленной модуляции их конкретных звеньев, измененных при действии дестабилизирующих факторов, в отличие от общей, тотальной стимуляции функций иммунной системы. Эта стратегия в большой мере основывается на использовании препаратов пептидной природы, разрабатываемых на основе цитокинов, регуляторных пептидов, а также препаратов нативной ДНК.

#### КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ И РЕГУЛЯЦИИ ЗАЩИТНЫХ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТРЕССЕ

Использование различных моделей экспериментального стресса и различных видов животных – крыс Wistar и мышей-гибридов (СВАхС57BL6)F1 – позволило установить, что в зависимости от природы, длительности и интенсивности стрессорного воздействия у животных наблюдается стимуляция либо супрессия гуморального иммунного ответа. Кратковременное, мягкое, не травмирующее воздействие (ротация мышей при 78 об/мин в течение 1 ч, охлаждение крыс при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 10 мин) приводило к стимуляции гуморального иммунного ответа, уровень которого определили по общим титрам антител в сыворотке крови и по количеству антителообразующих клеток в селезенке; длительное и жесткое воздействие (комбинация охлаждения мышей при  $4-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 2 ч с последующей их иммобилизацией; охлаждение иммобилизованных крыс при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин) вызывало развитие выраженной иммуносупрессии [7, 8, 12, 14].

Использованный традиционный путь оценки изменения продукции ИЛ-1 в составе лимфоцит-ак-

тивирующих факторов (ЛАФ), его уровня в крови и концентрации в крови глюкокортикоидных гормонов – маркеров развития стрессорной реакции – при различных видах стресса у мышей и крыс, позволил установить, что стрессорные воздействия различной природы, вызывающие развитие как иммуностимуляции, так и иммуносупрессии, индуцируют продукцию ЛАФ макрофагами, повышение концентрации ИЛ-1 и кортикостерона в крови животных [7, 8, 12]. В этих экспериментах лимфоцит-активирующие свойства инкубатов макрофагов оценивали по их способности оказывать комитогенное действие на пролиферацию тимоцитов мышей, стимулированных лектинами в субоптимальных дозах [53]. Концентрацию ИЛ-1 $\alpha$  в сыворотке крови мышей и ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа при использовании стандартных наборов ELISA kit (Genzyme, USA), уровень кортикостерона – радиоиммунологическим методом конкурентного связывания [2].

Однако при развитии исследований от продукции ИЛ-1 к его действию на клетки-мишени при стрессе, на примере комитогенного влияния ИЛ-1 $\beta$  на пролиферацию тимоцитов мышей и лимфоцитов периферической крови крыс – одного из ключевых свойств ИЛ-1 [26, 27], наблюдаемые эффекты действия ИЛ-1 на лимфоидные клетки различались в зависимости от вида стрессорного воздействия и коррелировали с изменениями вектора гуморального иммунного ответа. Реакцию бласттрансформации (РБТЛ) определяли по комитогенному действию рекомбинантного ИЛ-1 $\beta$  крысы или человека со специфической активностью  $1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8$  ед/мг белка (Stockholm University, Sweden; Institute for Drug Research, Budapest, Hungary) на пролиферацию лимфоцитов и тимоцитов, стимулированных Кон А (Sigma) в субоптимальной дозе [53].

Установлено, что при стрессах, вызывающих развитие иммуносупрессии, ИЛ-1 продуцируется, но при этом восприятие его лимфоидными клетками-мишенями существенно снижено [12]. Полученные данные также свидетельствуют об изменении функциональной активности лимфоидных клеток при стрессе: при иммуностимулирующих, мягких стрессах их пролиферативная активность возрастает, а при длительных, жестких воздействиях – подавляется (рис. 1А, Б).

Снижение интенсивности РБТЛ тимоцитов и лимфоцитов периферической крови при жестком стрессорном воздействии, по-видимому, является, по крайней мере, одной из причин супрессии гуморального иммунного ответа у стрессированных животных. Другой причиной развития стресс-индуцированной иммуносупрессии может быть модулирующее влияние глюкокортикоидных гормонов на развитие ИЛ-1-индуцированных иммунологических защитных реакций.

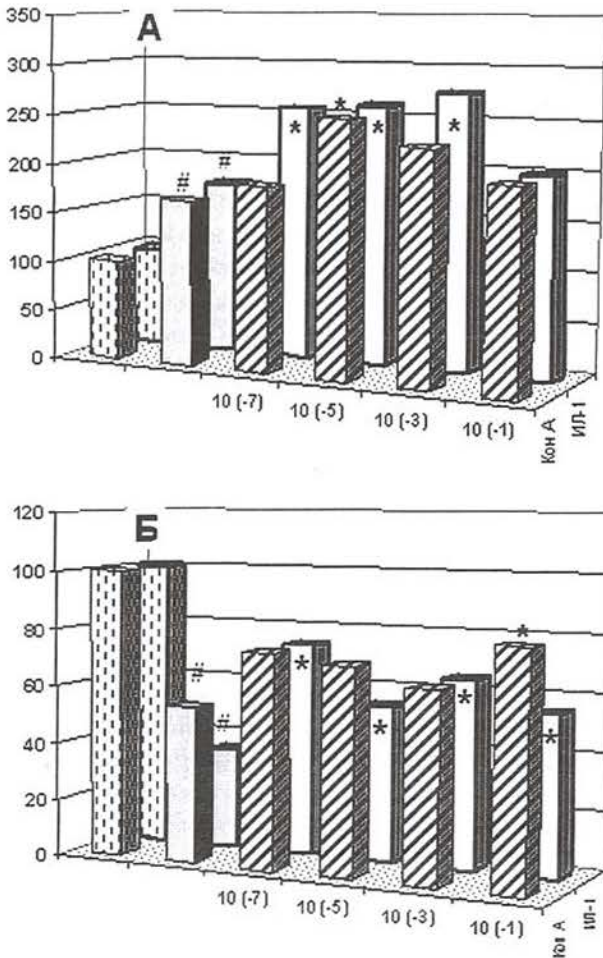


Рис. 1. Пролiferативная активность мышинных тимоцитов, стимулированных Кон А и препаратом ИЛ-1бета, после ротационного (А) и комбинированного (Б) стрессорных воздействий и влияние на нее эпیتالона.

По оси абсцисс – концентрация эпیتالона (нг/мл), по оси ординат – уровень интенсивности реакции бласттрансформации тимоцитов (%). Показатель РБТЛ у интактных животных принят за 100%.

Экспериментальные группы:

□ – интактные; ■ – стрессированные; ▨ □ – стрессированные; после внесения в суспензию клеток эпیتالона.

# –  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем РБТЛ у интактных животных, выраженным в 100%, \* –  $p < 0,05$  по сравнению с тем же показателем у стрессированных животных

Показано взаимное модулирующее действие ИЛ-1 и глюкокортикоидных гормонов, позволяющее заключить, что физиологические колебания уровня глюкокортикоидов, обычно наблюдаемые при стрессе, не вызывают подавления продукции и биологического действия ИЛ-1, т. е. того, что происходит при введении глюкокортикоидов в фармакологических дозах, особенно при их добавлении к культурам клеток [21], а, скорее, стимулируют эти функции. Одним из проявлений этого функционального взаимодействия, очевидно, является установленный протективный эффект ИЛ-1β в отношении обусловленной

глюкокортикоидами и стресс-индуцированной иммуносупрессии [6, 12, 54].

Высокой чувствительностью к действию стресса обладают также ЕК клетки, выполняющие эффекторные и регуляторные функции, являющиеся важнейшим звеном противоопухолевой и противовирусной защиты организма [59, 61]. Нарушение функций ЕК клеток при стрессе может обуславливать интенсификацию развития различных форм патологии, в том числе при стресс-индуцированном иммунодефиците.

Для оценки цитотоксической активности ЕК клеток селезенки крыс, в качестве мишеней для них использовали клетки эритромиелоза человека К-562 (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург), которые метили <sup>3</sup>Н-уридином (В/О «Изотоп», Россия). Реакцию между этими клетками после их инкубации в течение 20 ч в СО<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С, 5% СО<sub>2</sub> и 100% влажности учитывали по уровню <sup>3</sup>Н-уридина в нелизированных клетках-мишенях [3, 15]. Цитотоксическую активность ЕК клеток (в %) рассчитывали по формуле:

$$\text{Специфическая цитотоксичность} = \frac{(1 - \text{Среднее число импульсов (с.р.м.) в тест-ячейке} / \text{среднее число импульсов (с.р.м.) в контроле}) \times 100}{1}$$

В исследовании влияния стрессорных воздействий на функциональную активность ЕК клеток селезенки в качестве стимулирующего и угнетающего стрессорных воздействий использован один и тот же тип раздражения, но с различной длительностью и при условии забора материала через различные промежутки времени. Режимы электроболевого раздражения задних конечностей крыс, известного в литературе как «foot-shock» [22, 28], были специально отработаны с целью модуляции цитотоксической активности ЕК клеток селезенки [3]. При использовании моделей электроболевого раздражения постоянным током в 1,5 мА, продолжительность импульса 1 с, 4 импульса в 1 мин, в случайном порядке установлено, что стресс-обусловленные изменения функциональной активности спленоцитов зависят от временного режима воздействия: кратковременное двукратное (по 30 мин каждое) электроболевое раздражение при условии забора материала через 20 ч приводит к стимуляции цитотоксической активности ЕК клеток селезенки, а 60-минутное однократное воздействие через 2 ч после его окончания вызывает подавление цитотоксичности спленоцитов (рис. 2А, Б).

Такие же разнонаправленные изменения цитотоксической активности ЕК клеток селезенки крыс (стимуляция или подавление) наблюдались и при использовании моделей холодого и комбинированного стресса: охлаждения животных при –20 °С в течение 10 мин и 30 мин (в сочетании с иммобилизацией) соответственно (рис. 3).

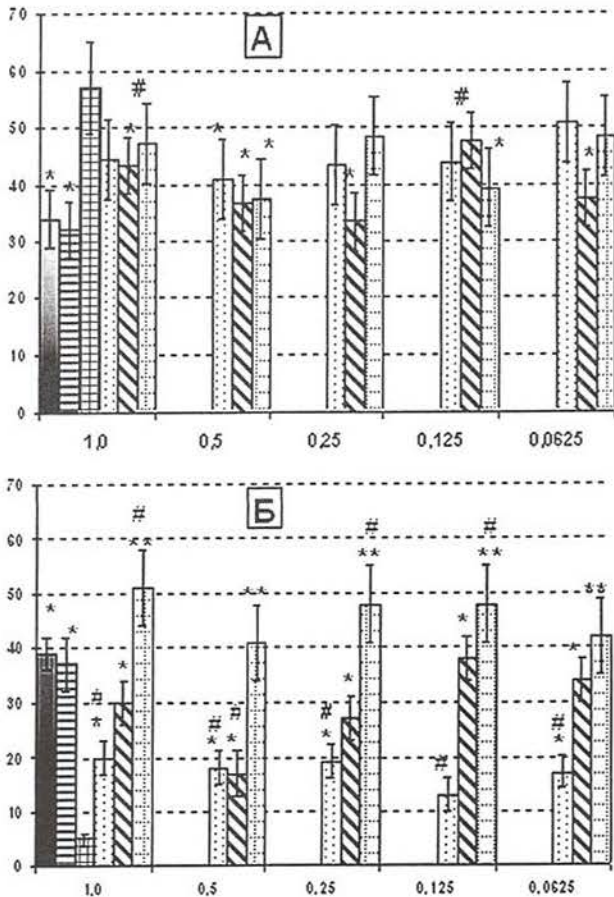


Рис. 2. Цитотоксическая активность ЕК клеток селезенки крыс, подвергнутых двукратному, по 30 мин каждая (А), и однократному, в течение 60 мин (Б), электроболевому раздражению задних конечностей и влияние на нее вилона, эпیتالона, кортагена.

По оси абсцисс – концентрация пептидов вилона, эпیتالона или кортагена (x10<sup>3</sup> нг/мл); по оси ординат – цитотоксическая активность ЕК клеток селезенки крыс (%):

■ – intactных; □ – контрольных, подвергнутых ложному электроболевому раздражению; ▨ – стрессированных; ▩ – после внесения в суспензию клеток вилона; ▪ – эпیتالона; ▫ – кортагена.

\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с цитотоксической активностью ЕК клеток стрессированных животных; # –  $p < 0,05$  по сравнению с цитотоксической активностью ЕК клеток intactных и контрольных животных

Анализ полученных данных позволяет предположить, что мобилизация защитных реакций при стрессе в большой мере определяется уровнем функциональной активности иммунокомпетентных клеток, а также изменением их реакции на действие регуляторного сигнала, в частности ИЛ-1. Таким образом, стресс сопровождается продукцией ИЛ-1, но характер стресс-индуцированных защитных реакций, инициируемых ИЛ-1, по-видимому, определяется лиганд-рецепторными взаимодействиями ИЛ-1 с клетками-мишенями. Результаты проведенной работы определили необходимость изучения особенностей

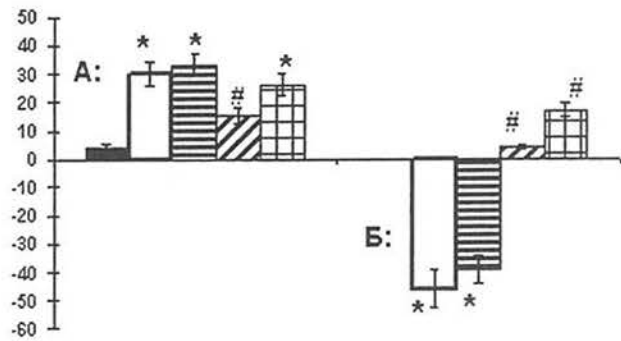


Рис. 3. Цитотоксическая активность ЕК клеток селезенки крыс после 10-минутного холодного (А) или 30-минутного комбинированного (Б) стрессорных воздействий и внутрибрюшинного введения Дерината.

По оси ординат – цитотоксическая активность спленоцитов животных (%). Показатель цитотоксической активности у intactных животных принят за «0».

Экспериментальные группы:

■ – intactные животные; □ – стрессированные, подвергнутые 10-минутному холодному или 30-минутному комбинированному воздействию; ▨ – подвергнутые 10-минутному холодному или 30-минутному комбинированному воздействию + введение 0,15M NaCl; ▩ – подвергнутые 10-минутному холодному или 30-минутному комбинированному воздействию + введение Дерината в дозе 10 мг/кг массы; ▪ – подвергнутые 10-минутному холодному или 30-минутному комбинированному воздействию + введение Дерината в дозе 50 мг/кг массы.

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с тем же показателем у intactных животных; # –  $p < 0,05$  по сравнению с тем же показателем у стрессированных животных

взаимодействий ИЛ-1 с его иммунокомпетентными и нервными клетками-мишенями, важным звеном которых является внутриклеточная трансдукция его сигнала.

При изучении стресс-индуцированных изменений трансдукции сигнала ИЛ-1 $\beta$  в клетках иммунной системы и мозга, исследован ее сфингомиелиновый путь, который наряду с классическими аденилатциклазным и фосфоинозитидным путями, является одним из основных сигнальных механизмов, обеспечивающих реализацию многих биологических эффектов ИЛ-1, ФНО- $\alpha$  и интерферона- $\gamma$  [32, 40, 46]. Этот путь сигнальной трансдукции инициируется активацией мембранного фермента нейтральной сфингомиелиназы (Н-СМазы), катализирующей гидролиз мембранного сфингомиелина до вторичного клеточного мессенджера церамида [40, 46].

Результаты исследований, проведенных Отделом общей патологии и патофизиологии НИИЭМ СЗО РАМН совместно с Отделом нейрохимии и нейротоксикологии Стокгольмского Университета (Швеция), впервые показали возможность проведения сигнала ИЛ-1 $\beta$  в нервных клетках по сфингомиелиновому пути так, как это было показано ранее для иммуно-

компетентных клеток [40, 46]. Удельную активность Н-СМазы в Р2 фракции коры головного мозга [42] и мембранах тимоцитов мышей определяли методом S. Rao and M. Spence [52] в собственной модификации. Активность Н-СМазы оценивали по количеству меченого [<sup>14</sup>C]-фосфорилхолина, перешедшего при гидролизе [<sup>14</sup>C]-сфингомиелина в водную фазу, образующуюся после осаждения мембран 100% ТХУ [11, 47].

Установлено, что для индукции передачи сигнала ИЛ-1β в нервные клетки необходимо связывание цитокина с рецептором ИЛ-1 I типа – сигнального рецептора, через который ИЛ-1 осуществляет передачу своего сигнала в клетку [57] – при сохранении его целостности, включая аксессуарный белок [11, 47]. При использовании фракции Р2 коры головного мозга мышей с генетическим дефектом экспрессии рецептора ИЛ-1 I типа (Merck Co) впервые показано, что функции рецепторов II типа – регуляторной «ловушки» для цитокина [57], не ограничиваются захватом ИЛ-1 без последующей внутриклеточной передачи его сигнала, как это было установлено ранее, но они также могут опосредовать ингибирующее действие цитокина на метаболизм и функционирование клеток [11, 55].

Экспериментально доказана ключевая роль Н-СМазы как фермента, инициирующего сфингомиелиновый путь сигнальной трансдукции ИЛ-1β [11, 12], и это подтверждает адекватность модели определения активности Н-СМазы для оценки интенсивности сфингомиелинового каскада.

В свете полученных данных о роли ИЛ-1 при стрессе, специальный интерес представлял вопрос о том, вовлечен ли сфингомиелиновый путь сигнальной трансдукции ИЛ-1β в механизмы развития стрессорной реакции. С этой целью использованы мембранная фракция Р2 коры головного мозга и мембранная фракция тимоцитов мышей (СВАхС57ВL6)F1, подвергнутых жесткому комбинированному и мягкому ротационному стрессорным воздействиям, вызывающим у животных, соответственно, угнетение и стимуляцию гуморального иммунного ответа. Установлено, что комбинированный стресс у мышей, индуцирующий развитие иммуносупрессии, приводит к подавлению активности Н-СМазы в Р2 фракции и мембранах тимоцитов по сравнению с активностью фермента в мембранных фракциях нестрессированных мышей, а иммуностимулирующий ротационный стресс вызывает увеличение активности этого фермента (рис. 4А, Б). Изменения Н-СМазной активности в клетках коры и в тимоцитах у стрессированных мышей коррелировали также с полученными в работе данными о стресс-индуцированных изменениях пролиферации тимоцитов под действием ИЛ-1β [ ].

Таким образом, трансдукция сигнала ИЛ-1β по сфингомиелиновому пути в клетках нервной и им-

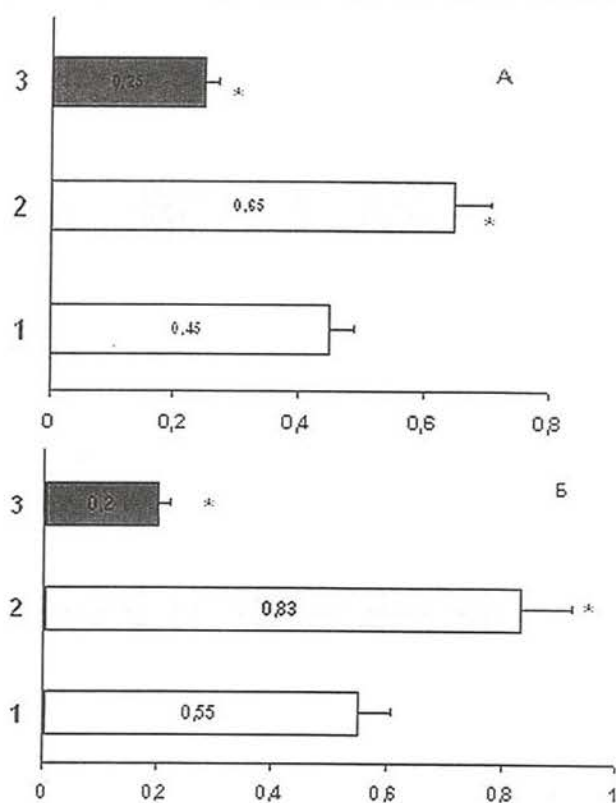


Рис. 4. Влияние ротационного и комбинированного стрессорных воздействий на удельную активность нейтральной сфингомиелиназы в мембранах тимоцитов (А) и Р2 фракции коры головного мозга (Б) мышей.

По оси абсцисс – удельная активность нейтральной сфингомиелиназы в нМ/[<sup>14</sup>C]СМ/мг белка/мин; по оси ординат – экспериментальные группы: □ 1 – базальный уровень активности Н-СМазы у интактных животных; ▒ 2 – уровень активности Н-СМазы после воздействия ротационного стресса; ■ 3 – уровень активности Н-СМазы после воздействия комбинированного стресса.

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с базальным уровнем активности фермента

мунной систем вовлечена в развитие стрессорной реакции. Результаты исследования позволяют заключить, что изменение интенсивности трансдукции сигнала ИЛ-1β по сфингомиелиновому пути, коррелирующее с изменением вектора гуморального иммунного ответа, является информативным показателем нарушений защитных реакций организма при стрессе. Активность Н-СМазы, таким образом, является потенциальной мишенью для фармакологической коррекции дисфункций иммунной системы

#### ЦЕНТРАЛЬНЫЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ СИНДРОМА ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Одной из физиологически адекватных экспериментальных моделей хронической усталости являет-

ся ее индукция внутрибрюшинным (в/б) введением крысам синтетической двуцепочечной РНК (полирибоинозитиловой : полирибозитидиловой кислоты, Поли И:Ц) в дозе 3 мг/кг массы тела животного, предложенная японскими авторами [36, 37]. Введение Поли И:Ц индуцирует продукцию интерферонов клетками иммунной системы, а также экспрессию интерферона- $\alpha$  в структурах мозга и, таким образом, имитирует развитие вирусной инфекции – одного из этиологических факторов развития синдрома хронической усталости [36]. Его действие реализуется с участием Toll 3 рецепторов, расположенных в мембранах иммунокомпетентных и нервных клеток [36].

На 7-й день после введения Поли И:Ц у животных снижается число спонтанных пробежек во вращающемся колесе до 60%, что свидетельствует о развитии у них хронической усталости; к 14-м сут количество пробежек восстанавливается до исходного уровня. По данным авторов модели, концентрации АКТГ, адреналина, норадреналина и дофамина в крови на 7-е сут после введения Поли И:Ц не отличались от тех же показателей у контрольных животных [36]. Тем не менее результаты клинических наблюдений позволяют заключить, что при развитии синдрома хронической усталости нарушаются функции нейроэндокринной системы, прежде всего ГГАКС, а также развиваются дисфункции иммунной системы [10, 23, 51].

При экспериментальном исследовании изменения показателей активности иммунной системы и ГГАКС в динамике развития хронической усталости, препарат Поли И:Ц (Amersham, UK) вводили крысам Wistar в/б в дозе 3 мг/кг массы в растворе 0,15M NaCl. Контрольным животным вводили 0,15M NaCl в том же объеме. На этой модели проведено исследование механизмов нарушений функций ГГАКС, индуцированных введением крысам препарата Поли И:Ц. Концентрацию кортикостерона определяли иммуноферментным методом с использованием ELISA kit (DRG USA) в сыворотке крови, собранной через 1, 2, 24 ч, на 3-и, 5-, 7-, 10- и 14-е сут после введения Поли И:Ц.

В отличие от клинических данных, установлено, что выраженного снижения уровня циркулирующего кортикостерона в крови животных с экспериментально индуцированной хронической усталостью не происходит. Наоборот, введение Поли И:Ц вызывало повышение концентрации кортикостерона в крови в первые часы и сутки, а затем на 5–7-е сут, снижающееся до нормальных значений к 14-м сут.

Для выявления нарушений функций ГГАКС в различных ее звеньях при развитии хронической усталости проведены функциональные пробы с введением животным АКТГ и гидрокортизона после инъекции Поли И:Ц. Препараты АКТГ (Sigma) в

дозе 250 мкг/кг и гидрокортизона (Рихтер, Венгрия) в дозе 50 мг/кг вводили животным в/б на 7-, 10- и 14-е сут после инъекции Поли И:Ц.

Показано, что введение АКТГ (без Поли И:Ц) в дозе 250 мкг/кг массы вызывало существенное повышение уровня кортикостерона в крови животных. У крыс, которым АКТГ вводили после инъекции Поли И:Ц, наблюдалось снижение концентрации гормона на 7-е и 10-е сут (рис. 5А). По-видимому, при развитии синдрома хронической усталости происходит снижение чувствительности клеток надпочечников к АКТГ, не сопровождающееся, однако, истощением резервных возможностей этих клеток, поскольку к 14-м сут после введения Поли И:Ц наблюдается нормализация гормонального ответа на введение АКТГ [15, 18].

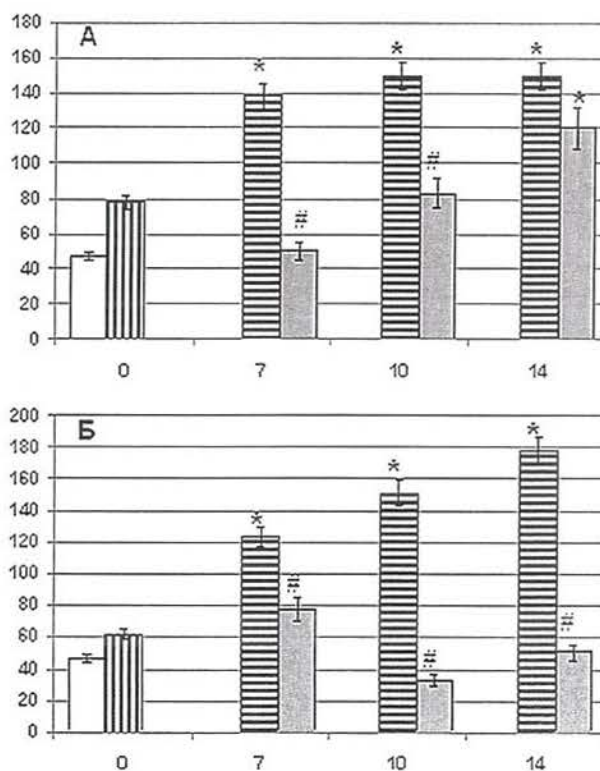


Рис. 5. Изменение концентрации кортикостерона в крови крыс в стандартной пробе с введением АКТГ (А) и гидрокортизона (Б) в разные сроки после индукции экспериментальной хронической усталости.

По оси абсцисс – время (сут) после индукции синдрома хронической усталости; по оси ординат – концентрация кортикостерона, нг/мл.

Экспериментальные группы: □ – интактные; ▨ – контрольные, после внутрибрюшинного введения 0,15M NaCl; ▨ – после внутрибрюшинного введения АКТГ в дозе 250 мкг/кг или гидрокортизона в дозе 50 мг/кг массы животного; ▨ – после внутрибрюшинного введения Поли И:Ц в дозе 3 мг/кг массы и АКТГ или гидрокортизона.

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем гормона у интактных и контрольных животных; # –  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем гормона у животных без хронической усталости, которым вводили АКТГ или гидрокортизон

Введение гидрокортизона в дозе 50 мг/кг массы также вызывало повышение уровня кортикостерона в крови, тогда как у животных, которым предварительно вводили Поли И:Ц, гормональная реакция была снижена по сравнению с ее интенсивностью у животных, которым Поли И:Ц не вводили (рис. 5Б). Полученные данные позволяют предположить, что под влиянием Поли И:Ц угнетается продукция кортикотропин-реализующего фактора (КРФ) в гипоталамусе и ослабляется его регуляторное влияние на функции клеток гипофиза, что препятствует проявлению механизма отрицательной обратной связи – одного из основных механизмов регуляции активности ГТАКС [15, 18].

Таким образом, анализ механизмов нарушения функций ГТАКС у животных с экспериментальной хронической усталостью, проведенный с применением функциональных проб, позволил выявить ряд нарушений регуляции ее функций: изменение реакции клеток надпочечников на введение АКТГ и угнетение механизма отрицательной обратной связи, установленное в пробе с введением крысам гидрокортизона. Полученные экспериментальные данные согласуются с клиническими наблюдениями [23, 24, 56], в которых также отмечалось снижение резервных возможностей клеток надпочечников и продукции ими глюкокортикоидных гормонов у пациентов с синдромом хронической усталости.

При исследовании центральных сигнальных механизмов развития хронической усталости у крыс, так же как и при анализе передачи сигнала цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и интерферона- $\gamma$  в клетках-мишенях животных, подвергнутых действию стресса, оценивали интенсивность трансдукции сигнала по сфингомиелиновому пути. Для этого определяли изменение активности Н-СМазы – ключевого фермента сфингомиелинового каскада – в мембранной фракции Р2 коры головного мозга крыс с экспериментально индуцированной хронической усталостью. Установлено снижение активности Н-СМазы на 3-й день после введения животным Поли И:Ц, а затем ее восстановление до уровня у контрольных животных через 5 и 7 дней после инъекции препарата [15].

Можно предположить, что одним из механизмов подавления активности Н-СМазы в этих условиях является индуцированное введением Поли И:Ц усиление экспрессии РНК для ингибитора ядерного фактора кВ что, в свою очередь, приводит к супрессии сигнальной трансдукции цитокинов в нервных клетках [37]. Полученные данные согласуются с установленным ранее снижением активности Н-СМазы в мембранах нервных и иммунокомпетентных клеток мышей, подвергнутых действию стресса, вызывающего супрессию гуморального иммунного ответа [12, 13, 55].

Для оценки нарушения функций иммунной системы в динамике развития хронической усталости у крыс проведено исследование изменения интенсивности цитотоксической и пролиферативной активности клеток селезенки, извлеченной на 3-и, 7-, 10- и 14-е сут после введения животным препарата Поли И:Ц. Цитотоксическую активность ЕК клеток и реакцию бласттрансформации спленоцитов определяли так же, как при изучении влияния стрессорных воздействий на функциональную активность лимфоидных клеток. Введение Поли И:Ц крысам вызывало усиление цитотоксической активности ЕК клеток селезенки на 3-й день после в/б инъекции препарата по сравнению с активностью клеток контрольных животных. Повышение цитотоксичности ЕК клеток в этот срок наблюдения может быть обусловлено реакцией спленоцитов непосредственно на саму инъекцию Поли И:Ц. Однако на 7-е и 10-е дни после введения Поли И:Ц – период развития хронической усталости у животных – цитотоксическая активность клеток существенно снижалась, а на 14-й день восстанавливалась до ее уровня у интактных и контрольных крыс [15].

Такая же тенденция обнаружена при исследовании пролиферативной активности спленоцитов, индуцированной действием митогена Кон А в субоптимальной дозе и ИЛ-1 $\beta$ , в различные сроки после введения животным Поли И:Ц. На 3-й день после инъекции препарата происходило увеличение скорости включения Н<sup>3</sup>-тимидина в ДНК делящихся спленоцитов, как в покоящейся культуре клеток, так и в результате комитогенного действия ИЛ-1 $\beta$  в присутствии Кон А. На 7-е и 10-е сут после введения Поли И:Ц пролиферативный ответ спленоцитов на действие ИЛ-1 $\beta$  совместно с Кон А был подавлен по сравнению с реакцией контрольных и интактных животных, а на 14-е сут возвращался к исходному уровню [15].

Установленное в работе подавление цитотоксической и пролиферативной активности спленоцитов – важнейших проявлений реакций врожденного и адаптивного иммунитета – после однократного в/б введения крысам препарата Поли И:Ц демонстрирует развитие дисфункций иммунной системы в период формирования у животных экспериментальной хронической усталости. Результаты исследования, демонстрирующие торможение цитотоксичности ЕК клеток селезенки у крыс с хронической усталостью, согласуются с данными литературы [34, 36]. Индуцированное введением Поли И:Ц снижение пролиферативной активности спленоцитов крыс в ответ на действие регуляторного сигнала – цитокина ИЛ-1 $\beta$ , являющегося одним из важнейших медиаторов нейро-иммунных взаимодействий, показано впервые.



Таким образом, использование экспериментальной модели хронической усталости является адекватным методическим подходом к изучению клеточно-молекулярных (в том числе сигнальных) механизмов взаимодействий нейроэндокринной и иммунной систем, их нарушений и возможности их коррекции.

### МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КОРОТКИХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ АКТИВНОСТИ ЗАЩИТНЫХ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ СТРЕССЕ И ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ

Перспективным подходом к коррекции нарушенных защитных функций организма является исследование и последующее использование иммуномодулирующих препаратов пептидной природы. Высокую биологическую активность проявляют не только природные, но и синтетические пептиды – структурные аналоги эндогенных пептидов или их фрагментов. Созданные в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН дипептид вилон (Lys-Glu), тетрапептиды эпиталон (Ala-Glu-Asp-Gly) и кортаген (Ala-Glu-Asp-Pro), синтезированные на основании данных аминокислотного анализа биологически активных веществ пептидной природы из тимуса, эпифиза и коры головного мозга, соответственно, обладают иммуномодулирующими и нейроэндокринотропными свойствами [9, 19, 38, 39].

Установлено, что вилон и эпиталон (но не кортаген) при внесении в суспензию инкубируемых спленоцитов нестрессированных крыс в диапазоне концентраций  $1,0 \times 10^3$ ,  $0,5 \times 10^3$ ,  $0,25 \times 10^3$ ,  $0,125 \times 10^3$  и  $0,0625 \times 10^3$  нг/мл вызывают повышение цитотоксической активности ЕК клеток.

При использовании моделей электроболевого раздражения задних конечностей крыс в двух режимах установлено, что вилон, эпиталон и кортаген в большинстве использованных концентраций оказывают модулирующее действие на цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки: оба пептида снижали цитотоксичность ЕК клеток, повышенную после двукратного (по 30 мин каждое) воздействия, и усиливали ее в случае подавления, вызванного 60-минутным однократным электрораздражением (рис. 2А, Б).

Кортаген не оказывал стимулирующего влияния на цитотоксическую активность спленоцитов нестрессированных животных, проявляя при этом наиболее выраженное стимулирующее действие в отношении подавленной цитотоксичности ЕК клеток селезенки животных, подвергнутых однократному электроболевому стрессу (рис. 2).

С позиций современной медицинской науки, наибольшей значимостью в качестве потенциальных

лекарственных средств обладают те пептиды, которые не вмешиваются в нормально протекающие физиологические процессы, но оказывают корректирующее действие в условиях измененных функций иммунной системы. В проведенном исследовании таким пептидом является кортаген.

Сравнивая действие вилона, эпиталона и кортагена в норме и при стрессе, необходимо подчеркнуть, что эпиталон и кортаген оказывают нормализующее действие на цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки, нарушенную в результате стрессорного воздействия, повышая сниженную и понижая повышенную цитотоксичность спленоцитов, проявляя, таким образом, стресс-протективные эффекты.

Полученные данные находятся в соответствии с результатами ранее проведенных исследований, в которых стресс-протективное действие эпиталона и вилона установлено на двух моделях *in vitro*: реакции бласттрансформации тимоцитов и трансдукции сигнала цитокина IL-1 $\beta$  по сфингомиелиновому пути в мембранах клеток коры головного мозга мышей, подвергнутых действию иммуносупрессирующего (комбинированного) или иммуностимулирующего (ротационного) стрессов [39].

На рис. 1А, Б представлены данные, подтверждающие стимулирующее действие эпиталона на пролиферативную активность тимоцитов мышей после как ротационного, так и комбинированного стрессорных воздействий. Выявлено также нормализующее действие вилона и эпиталона в диапазоне концентраций 0,1–100 нг/мл на активность Н-СМазы в мембранах нервных клеток мышей, измененную при действии иммуносупрессирующего комбинированного стресса, и в мембранах тимоцитов животных – при действии иммуностимулирующего ротационного стресса [39].

На экспериментальной модели хронической усталости у крыс получены новые данные о возможности коррекции вилоном, эпиталонем и кортагеном *in vitro* цитотоксической активности ЕК клеток и пролиферативной активности спленоцитов, подавленных после введения животным препарата Поли И:Ц. Эпиталон, внесенный в инкубационную среду в концентрации 2,5 пг/мл, предотвращал повышение цитотоксичности спленоцитов крыс на 3-и сут после введения животным Поли И:Ц; вилон и кортаген такого действия не оказывали. На 7-е сут после введения Поли И:Ц подавленная цитотоксичность ЕК клеток селезенки восстанавливалась до уровня активности клеток интактных животных при добавлении в культуральную среду каждого из трех использованных пептидов в той же концентрации.

Вилон и кортаген в концентрации 2,5 пг/мл не изменяли интенсивности РБТЛ (при инкубации спленоцитов с Кон А) у животных, подвергнутых действию Поли И:Ц, однако при инкубации спленоцитов с Кон А и ИЛ-1 $\beta$  кортаген вызывал усиление пролиферативной активности клеток. В отличие от

этих пептидов, эпиталон в условиях экспериментальной хронической усталости индуцировал нарастание РБТЛ при стимуляции клеток Кон А, а также Кон А совместно с ИЛ-1 $\beta$ . Таким образом, установлено, что кортаген и эпиталон потенцируют комитогенное действие ИЛ-1 $\beta$  и усиливают пролиферативную активность спленоцитов.

Результаты работы являются фундаментальной предпосылкой для разработки способа использования коротких синтетических пептидов с целью коррекции нарушенных защитных функций организма при стрессе и синдроме хронической усталости.

### КОРРЕКЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИММУННОЙ И НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМ ПРИ СТРЕССЕ И ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ

Одним из потенциальных корректоров нарушенных защитных функций организма при стрессе и синдроме хронической усталости является лекарственный препарат Деринат (АО ФП «Техномедсервис», Москва), представляющий собой натриевую соль нативной ДНК с молекулярной массой 270–500 kDa. Деринат, получаемый из молок лососевых или осетровых рыб, является уникальным полимерным иммуномодулятором, обладающим также радиопротекторной, противовирусной, регенеративной активностью [4].

Иммуномодулирующий эффект Дерината, введенного в организм, основан на его проникновении в клетки путем пиноцитоза с последующим расщеплением до нуклеотидов [49]. В настоящее время нуклеотиды, помимо их классических характеристик носителей генетической информации, рассматриваются как семейство сигнальных молекул, участвующих в регуляции защитных функций [35].

При изучении возможного модулирующего действия Дерината на показатели активности функций иммунной и нейроэндокринной систем в развитии стрессорной реакции, препарат, растворенный в 0,15M NaCl, вводили крысам однократно, в/б в дозах 10 или 50 мг/кг массы. Контрольным животным вводили 0,15M NaCl в том же объеме.

Установлено, что иммуностимулирующее 10-минутное холодое стрессорное воздействие через 24 ч приводит к увеличению цитотоксической активности ЕК клеток селезенки; после введения Дерината в дозе 10 мг/кг за 20 мин до аппликации стресса, эта активность снижалась, но практически до нормы, а не до глубокой депрессии системы. Иммуносупрессирующее 60-минутное комбинированное воздействие через 24 ч вызывало падение цитотоксической активности ЕК клеток селезенки; после введения Де-

рината в обеих дозах она восстанавливалась практически до нормальных значений (рис. 3А, Б). Таким образом, введение Дерината оказывало выраженное протективное и нормализующее действие на функциональную активность ЕК клеток, измененную в результате холодых стрессорных воздействий в различных режимах [14].

Введение Дерината в дозах 10 и 50 мг/кг массы за 20 мин до аппликации 10-минутного стрессорного воздействия не приводило к достоверному изменению реакции спленоцитов на комитогенное действие ИЛ-1 у стрессированных животных, а при аппликации 30-минутного комбинированного стресса предотвращало падение интенсивности РБТЛ через 1 ч после окончания воздействия и, следовательно, препятствовало стресс-индуцированному угнетению пролиферативной активности клеток.

Показано протективное действие Дерината в этих дозах и на функциональную активность перитонеальных макрофагов, оцениваемую по интенсивности продукции ими ЛАФ, которая была изменена в результате обоих видов стрессорных воздействий. Полученные результаты демонстрируют модулирующее, а в ряде случаев и нормализующее действие Дерината на стресс-индуцированные изменения функций иммунной системы [14].

Изменение уровня гормонов в крови, в отличие от функциональной активности иммунокомпетентных клеток, не зависело от вида стрессорного воздействия: на обеих моделях экспериментального стресса показано повышение уровня кортикостерона и снижение концентрации тестостерона (определенного иммуноферментным методом при использовании реактивов фирмы «Хема-Медика», Москва) в крови стрессированных животных, что соответствует данным литературы [17].

У крыс, которым за 20 мин до аппликации 10-минутного холодого стресса вводили Деринат в дозе 10 мг/кг массы, концентрация кортикостерона в крови повышалась по сравнению с уже возросшим уровнем гормона у стрессированных животных. Полученные данные в сочетании с результатами ранее проведенных исследований позволяют предположить перmissive роль глюкокортикоидных гормонов, способствующих, по-видимому, проявлению терапевтических эффектов Дерината при стрессе [14, 17].

В отличие от кортикостерона, концентрация тестостерона в крови крыс, подвергнутым обоим видам стрессорных воздействий, увеличивалась, если за 20 мин до аппликации стресса животным вводили Деринат в обеих дозах. Таким образом, введение Дерината предотвращало стресс-индуцированное снижение концентрации тестостерона в крови животных, оказывая стресс-протективное действие [17].

Исследование возможного корригирующего действия Дерината на показатели активности функций иммунной системы в динамике развития синдрома хронической усталости проведено в условиях целостного организма и *in vitro*. Установлено, что Деринат, внесенный в инкубационную среду в концентрации 1,0 и 5,0 мкг/мл, не влияет на цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки крыс, повышенную на 3-и сут после однократного введения животным Поли И:Ц. Однако сниженная на 7-е сут после введения Поли И:Ц цитотоксичность ЕК клеток восстанавливалась до уровня активности клеток интактных и контрольных животных при добавлении в инкубационную среду Дерината в обеих использованных дозах. Пролиферативная активность спленоцитов, наоборот, при добавлении Дерината к клеткам, инкубируемым с Кон А и Кон А совместно с ИЛ-1 $\beta$ , возрастала на 3-и сут после инъекции Поли И:Ц и не изменялась на 7-е сут.

При в/б введении Дерината крысам с индуцированной хронической усталостью показано его стимулирующее действие как на цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки, так и на пролиферативный ответ спленоцитов на действие Кон А и ИЛ-1 $\beta$ .

Изучение модулирующего действия Дерината на активность функций ГГАКС у животных с хронической усталостью проведено с применением функциональных проб – введения животным АКТГ в дозе 250 мкг/кг и гидрокортизона в дозе 50 мг/кг [18]. Их использование в условиях однократной индукции хронической усталости с помощью Поли И:Ц позволило выявить корригирующее действие Дерината, нормализующего как изменение реакции клеток надпочечников в пробе с введением АКТГ, так и проявление механизма обратной связи, установленное в пробе с гидрокортизоном.

Результаты исследования и ранее полученные данные позволяют предположить, что, по-видимому, в условиях развития хронической усталости и стресса Деринат воздействует на регуляторные механизмы продукции КРФ, нормализуя глюкокортикоидную функцию ГГАКС в различных ее звеньях [15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение механизмов взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем организма и их нарушений при дестабилизирующих воздействиях, как основы развития различных заболеваний, открывает перспективу оценки тяжести протекания заболевания и эффективности применяемой терапии, а также создает предпосылки для разработки новых методов их направленной коррекции, в том числе при стрессе и синдроме хронической усталости. Проведенное исследование позволило выявить изменения в

активности некоторых функций иммунной и нейроэндокринной систем в динамике развития стрессорной реакции и иммунологически индуцированной хронической усталости.

В работе впервые экспериментально доказано, что вектор стресс-индуцированных дисфункций иммунной системы определяется изменением характера реакций клеток иммунной и нервной систем на регуляторный сигнал (в том числе, ИЛ-1), что связано с изменением рецепторного аппарата клеток и интенсивности трансдукции сигнала цитокинов по сфингомиелиновому пути. Впервые установлено, что изменение активности Н-СМазы в мембранах нервных и иммунокомпетентных клеток является общим звеном в реакции клеток ЦНС и иммунной систем на стресс. Получены приоритетные данные, свидетельствующие о том, что нарушения нейроиммунных взаимодействий при развитии синдрома хронической усталости, включающие изменение активности ГГАКС, реализуются как на уровне изменения активности иммунокомпетентных клеток, так и непосредственно на мембранах клеток головного мозга.

Результаты исследования показывают, что хотя развитие как стресса, так и синдрома хронической усталости, сопровождается нарушениями взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем, их механизмы и не идентичны и являются результатом изменения уровня активности функций нейроэндокринной системы, активности и функциональных резервов иммунокомпетентных клеток, а также интенсивности трансдукции сигнала цитокинов по сфингомиелиновому пути.

Изменение этих показателей активности функций нейроэндокринной и иммунной систем при стрессе и хронической усталости информативно и отражает степень сохранности или нарушения защитных функций при дестабилизирующих воздействиях. Таким образом, функциональные тесты являются маркером тяжести патологического процесса или, наоборот, уровня защищенности организма, имеют прогностическое значение и в этом качестве, в сочетании с классическими количественными показателями, такими, как содержание в биологических жидкостях различных популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток, уровня иммуномодулирующих цитокинов и гормонов, могут быть использованы в клинической практике.

Выявление природы и механизмов нарушений нейроиммунных взаимодействий открывает новые пути и возможности для адресного воздействия на них с целью коррекции активности защитных функций и, таким образом, лечения заболеваний различной природы.

Показана возможность коррекции дисфункций иммунной и нейроэндокринной систем, обусловленных действием стрессирующих факторов или агентов, вызывающих развитие хронической усталости, пептидами вилонем, эпиталонем и кортагенем, а также препаратом Деринат. Полученные данные позволяют заключить, что стратегия нивелирования изменений функциональной активности иммунокомпетентных клеток и активности функций нейроэндокринной системы при стрессе и синдроме хронической усталости может быть основана, в том числе, и на использовании коротких синтетических пептидов и препаратов нативной ДНК.

Поддержано грантами РФФИ №00-04-49002, № 03-04-49236, № 06-04-48609

### Литература

- Арцимович Н.Г., Галушина Т.С. Синдром хронической усталости // Москва: Новый мир. 2002.
- Гончаров Н.П., Воронцов В.И., Кацян Г.В. и др. Изучение гормональной функции надпочечников и половых желез в опытах на обезьянах // Вестн. АМН СССР. 1977. Т. 8. С. 13-20.
- Гумен А.В., Шанин С.Н., Козинец И.А. и др. Цитотоксическая активность натуральных киллерных клеток селезенки крыс при стрессе и ее коррекция короткими иммуномодулирующими пептидами // Цитокины и воспаление. 2006. Т.5. № 2. С.37–41.
- Каплина Э.Н., Вайнберг Ю.П. Деринат – природный иммуномодулятор для детей и взрослых // М.: Научная книга, 2005.
- Корнева Е.А. Иммунофизиология как новое научное направление: предпосылки и история развития // Иммунофизиология / Под ред. Е.А. Корневой. СПб.: Наука, 1993. С. 11–36.
- Корнева Е.А., Рыбакина Е.Г., Фомичева Е.Е. и др. Иммуномодулирующие эффекты интерлейкина 1 и глюкокортикоидных гормонов как взаимодействующих звеньев в нейроиммунорегуляторной цепи // Int. J. Immunorehabilitation. 1998. № 10. С. 38–48.
- Корнева Е.А., Шанин С.Н., Рыбакина Е.Г. Интерлейкин 1 в реализации стресс-индуцированных изменений функций иммунной системы // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2000а. Т. 86. № 3. С. 292–302.
- Корнева Е.А., Рыбакина Е.Г., Шанин С.Н. и др. Клеточно-молекулярные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем при стрессе // Институт экспериментальной медицины на рубеже тысячелетий. СПб.: Наука, 2000б.
- Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. Пептидные тимоиметики. // СПб.: Наука. 2000.
- Нестерова И.В., Балмасова И.П., Козлов В.А. и др. Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции у лиц с рецидивирующими вирусными инфекциями: клинико-иммунологические черты и особенности серотонинергической регуляции // Цитокины и воспаление. 2006. Т. 5. № 2. С. 3 – 14.
- Рыбакина Е.Г., Наливаева Н.Н., Пиванович И.Ю. и др. Роль нейтральной сфингомиелиназы в трансдукции сигнала интерлейкина 1 в клетках коры головного мозга мышей // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2000. Т. 86. № 3. С. 303–311.
- Рыбакина Е.Г., Корнева Е.А. Физиологическая роль интерлейкина 1 в механизмах развития стрессорной реакции // Медицинский Академический Журнал. 2002. Т.2. № 2. С.4–17.
- Рыбакина Е.Г., Корнева Е.А. Трансдукция сигнала интерлейкина-1 в процессах взаимодействия нервной и иммунной систем // Вестник РАМН. 2005. № 7. С.3–8.
- Рыбакина Е.Г., Фомичева Е.Е., Шанин С.Н. и др. Активность защитных функций организма при стрессе и их коррекция препаратом Деринат // Медицинская иммунология. 2008. Т. 10. № 4–5. С. 431–438.
- Рыбакина Е.Г., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е. и др. Клеточные и молекулярные механизмы взаимодействия иммунной и нейроэндокринной систем при синдроме хронической усталости в эксперименте // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 2009. Т. 95. № 12. С. 1324–1335.
- Фомичева Е.Е., Шанин С.Н., Рыбакина Е.Г. Нарушения взаимодействия гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной и иммунной систем как один из механизмов развития синдрома хронической усталости // Нейроиммунология. 2008. Т. 6. № 1–2. С. 4 – 12.
- Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А. Шанин С.Н. и др. Стресс-индуцированные изменения функциональной активности нейроэндокринной системы: модулирующее действие препарата Деринат // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2009а. Т. 95. № 3. С. 290–296.
- Фомичева Е.Е., Рыбакина Е.Г., Филатенкова Т.А.. Активность гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы при индукции синдрома хронической усталости в эксперименте // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2009б. Т. 95. № 1. С. 11–18.
- Хавинсон В.Х., Рыбакина Е.Г., Корнева Е.А. и др. Влияние коротких пептидов на реакцию бласттрансформации тимочитов и процесс сигнальной трансдукции по сфингомиелиновому пути // Бюлл. эксперим. биол. мед.. 2002. Т. 133. № 5. С. 574–577.
- Шанин С.Н., Рыбакина Е.Г., Фомичева Е.Е. и др. Иммунопротективные эффекты фитопрепаратов-адаптогенов при стрессе // Int. J. Immunorehabilitation. 1999. Vol.11. P. 48–57.
- Besedovsky H.O., Del Rey A., Sorkin E. et al. Immunoregulatory feedback between Interleukin 1 and glucocorticoid hormones // Science. 1986. Vol. 223. № 4764. P. 652–654.

22. Bruijnzeel A.W., Stam R., Wiegant V.M. LY354740 attenuates the expression of long-term behavioral sensitization induced by a single session of foot shocks // *Eur. J. Pharmacol.* 2001. Vol. 426. № 1–2. P. 77–80.
23. Cleare A.J. The neuroendocrinology of chronic fatigue syndrome // *Endocrine Reviews.* 2003. Vol. 24. № 2. P. 236–252.
24. Cleare A. J. The HPA axis and the genesis of chronic fatigue syndrome // *Trends Endocrinol. Metabol.* 2004. № 15. P. 55–59.
25. de Becker P., McGregor N., de Meirleir K. Possible triggers and mode of onset of chronic fatigue syndrome // *J. Chronic. Fatigue Syndr.* 2002. № 10. P. 3–18.
26. Dinarello C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease // *Blood.* 1996. Vol. 87. P. 2095–2147.
27. Dinarello C.A. Interleukin 1: a proinflammatory cytokine // *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*, 3rd ed. / Ed. J.I. Gallin, R. Snyderman. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.
28. Endo Y., Shiraki K. Behaviour and body temperature in rats following chronic foot shock or psychological stress exposure // *Physiol. Behav.* 2000. Vol. 71. № 3–4. P. 263–268.
29. Fukuda K., Straus S.E., Hickie I. et al. The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study // *Ann. Intern. Med.* 1994. Vol. 121. P. 953–959.
30. Gerrity T.R., Papanicolaou D.A., Amsterdam J.D. et al. Immunologic aspects of chronic fatigue syndrome // *NeuroImmunoModulation.* 2004. Vol.11. № 6. P. 351–357.
31. Glaser R., Padgett D.A., Litsky M.L. et al. Stress-associated changes in the steady-state expression of latent Epstein-Barr virus: implication for chronic fatigue syndrome and cancer // *Brain Behav. Immunol.* 2005. №19. P. 91–103.
32. Hannun Y.A. Sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide // *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269. № 5. P. 3125–3128.
33. Heuser I., Lammers C.-H. Stress and the brain // *Neurobiol. Aging.* 2003. № 2. P. S69–S76.
34. Inoue K., Yamazaki H., Manabe Y. et al. Transforming growth factor beta activated during exercise in brain depresses spontaneous motor activity of animals // *Brain Research.* 1999. Vol. 846. P. 145–153.
35. Incho E.W. Renal microvascular effect of P2 receptor stimulation // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2001. Vol. 28. P. 332–339.
36. Katafuchi T., Kondo T., Yasaka T. et al. Prolonged effects of polyriboinosinic : polyribocytidylic acid on spontaneous running wheel activity and brain interferon alfa mRNA in rats: a model for immunologically induced fatigue // *Neuroscience.* 2003. Vol. 120. P. 837–845.
37. Katafuchi T., Kondo T., Take S. et al. Enhanced expression of brain interferon- $\alpha$  and serotonin transporter in immunologically induced fatigue in rats // *Eur. J. of Neurosci.* 2005. Vol. 22. P. 2817–2826.
38. Khavinson V.Kh., Goncharova N.P., Lapin B. Synthetic tetrapeptide epitalon restores disturbed neuroendocrine regulation in senescent monkeys // *Neuroendocrinol. Lett.* 2001. Vol. 22. №4. P. 251–254.
39. Khavinson V.Kh., Korneva E.A., Malinin V.V. et al. Effect of epitalon on Interleukin-1 $\beta$  signal transduction and the reaction of thymocyte blast transformation under stress // *Neuroendocrinol. Lett.* 2002. Vol. 23. № 5/6. P. 411–416.
40. Kolesnick R.N. Signal transduction through the sphingomyelin pathway // *Mol. Chem. Neuropathol.* 1994. Vol. 21. P. 287–297.
41. Korneva E.A., Rybakina E.G., Orlov D.S. et al. Interleukin-1 and defensins in thermoregulation, stress and immunity // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1997. Vol. 813. P. 465–473.
42. Lapetina E.G., Soto E.F., De Robertis E. Gangliosides and N-acetylcholinesterase in isolated membranes of the rat brain cortex // *Biochem. Biophys. Acta.* 1967. Vol. 135. P. 33–43.
43. Lerner, A. M., Beqaj, S. H., Deeter, R. G. et al. IgM serum antibodies to Epstein-Barr virus are uniquely present in a subset of patients with chronic fatigue syndrome // *In Vivo.* 2004. Vol. 18. P.101–106.
44. Long E.O., Rajagoplan S. Stress signals activate natural killer cells // *J. Exp. Med.* 2002. Vol. 196. № 11. P.1399–1402.
45. Lyall M., Peakman M., Wessely S. A systematic review and critical evaluation of the immunology of chronic fatigue syndrome // *J. Psychosom. Res.* 2003. Vol. 55. P. 79–90.
46. Mathias S., Pena L.A., Kolesnick R.N. Signal transduction of stress via ceramide // *Biochem. J.* 1998. Vol. 335. P. 465–480.
47. Nalivaeva N.N., Rybakina E.G., Pivanovich I. Yu. et al. Activation of neutral sphingomyelinase by IL-1 $\beta$  requires the type I Interleukin-1 receptor // *Cytokine.* 2000. Vol. 12. № 3. P. 229–232.
48. Narita M., Nishigami N., Narita N. et al Association between serotonin transporter gene polymorphism and chronic fatigue syndrome // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 311. P. 264–266.
49. North R.A. Molecular physiology of R2X receptors // *Physiol. Rev.* 2002. Vol. 82. P.1013–1067.
50. Padgett D.A., Stark J.L., Sheridan J.F. Neuroendocrine regulation of the immune response: contrasting effects of physical and social stress // *Brain and Biodefence / Ed. Y. Oomura, T. Hori. Karger. Tokyo. Basel: Japan Scientific Societies Press.* 1998.
51. Prins J.B., van der Meer J. W.M., Bleijenberg G. Chronic fatigue syndrome // *Lancet J.* 2006. Vol. 367. P. 246–355.
52. Rao B.G., Spence M.W. Sphingomyelinase activity at pH 7.4 in human brain and a comparison to activity at pH 5.0 // *J. Lipid Res.* 1976. Vol. 17. P. 506–515.

53. Rosenwasser L.J., Dinarello C.A. Ability of human leukocytic pyrogen to enhance phytohemagglutinin induced murine thymocyte proliferation // *Cell Immunol.* 1981. Vol. 63. № 1. P. 134–142.
54. Rybakina E.G., Shanin S.N., Kozinets I.A. et al. Cellular mechanisms of cold stress-related immunosuppression and the action of Interleukin 1 // *Int. J. Tiss. React.* 1997. Vol.19. № 3–4. P.135–140.
55. Rybakina E.G., Korneva E.A. Interleukin 1 $\beta$  signal transduction via the sphingomyelin pathway in brain cells // *Neuroimmune Biology, vol. 7, Cytokines and the Brain* / Ed. C. Phelps, E. Korneva. Netherland: Elsevier B.V, 2008. P. 79–91.
56. Scott L.V., Medbak S., Dinan T.G. Blunted adrenocorticotropin and cortisol responses to corticotropin-releasing hormone stimulation in chronic fatigue syndrome // *Acta Psychiatr. Scand.* 1998. Vol. 97. P. 450–457.
57. Sims J.E., Giri J.G., Dower S.K. The two interleukin-1 receptors play different roles in IL-1 activities // *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1994. Vol. 72. P. 9–14.
58. Takaki A., Shioda S., Ito K. et al. Non-inflammatory stress and brain-gut-liver-immune axis // *Brain and Biodefence* / Ed. Y. Oomura, T. Hori. Karger. Tokyo. Basel: Japan Scientific Societies Press. 1998.
59. Waldhauer I., Steinle A. NK cells and cancer immunosurveillance // *Oncogene.* 2008. Vol. 27. №. 6. P. 5932–5943.
60. Whistler T., Unger E.R., Nisenbaum R. et al. Integration of gene expression, clinical and epidemiologic data to characterize chronic fatigue syndrome // *J. Transl. Med.* 2003. № 1. P. 10–18.
61. Yokoyama W.M. Natural killer cell immune responses // *Immunol. Res.* 2005. Vol. 32. № 1–3. P. 317–325.